

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

Japanese Patent
Publication No.
61-13699

(11)Publication number : 57-002240

(43)Date of publication of application : 07.01.1982

(51)Int.Cl.

C07C 69/33
C07C 67/00
C07C 69/732
// A61K 31/215

(21)Application number : 55-076127

(71)Applicant : SANKYO CO LTD

(22)Date of filing : 06.06.1980

(72)Inventor : TANAKA MINORU
TERAHARA AKIRA

(54) ML-236B DERIVATIVE

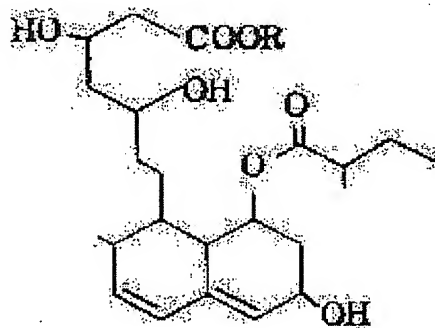
(57)Abstract:

NEW MATERIAL: An ML-236B derivative shown by the formula (R is H, lower alkyl, or alkali metal).

EXAMPLE: DUM-4 (when R is H).

USE: A remedy for hyperlipemia. Having more improved cholesterol inhibiting activities than ML-236B.

PROCESS: Doses of 200mg/kg/day of 236-B are applied to five beagle dogs (shes, 10kg average weight), their urine is collected for three days, 3l of the urine is passed through 500ml of XAD-2 column, eluted with 500ml of 50wt% acetone, acetone is distilled away under reduced pressure, and the residue is adjusted to pH 3 with trifluoroacetic acid. The residue is extracted with 1l ethyl acetate three times to give a DUM-4 (when R is H in the formula).



LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's

decision of rejection]

[Date of extinction of right]

⑫ 特 許 公 報 (B 2)

昭61-13699

⑪ Int. Cl.⁴

C 07 C 69/33
A 61 K 31/215
C 07 C 69/732
C 12 P 7/62

識別記号

ADN

庁内整理番号

6556-4H
7330-4C
6556-4H
8213-4B

⑭公告 昭和61年(1986)4月15日

発明の数 1 (全4頁)

⑮発明の名称 ML-236B誘導体

⑯特 願 昭55-76127

⑰公 開 昭57-2240

⑱出 願 昭55(1980)6月6日

⑲昭57(1982)1月7日

⑳発 明 者 田 中 実 東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社中央研究
所内

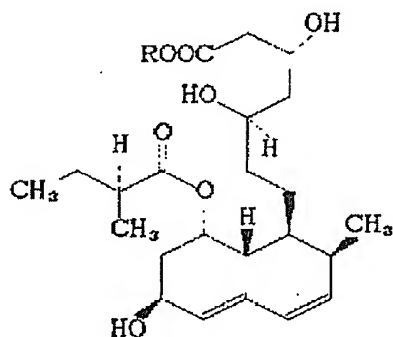
㉑発 明 者 寺 原 昭 東京都品川区広町1丁目2番58号 三共株式会社酵母研究
所内

㉒出 願 人 三 共 株 式 会 社 東京都中央区日本橋本町3丁目1番地の6

㉓代 理 人 弁理士 榎出 庄治
審 査 官 日 野 あ け み

㉔特許請求の範囲

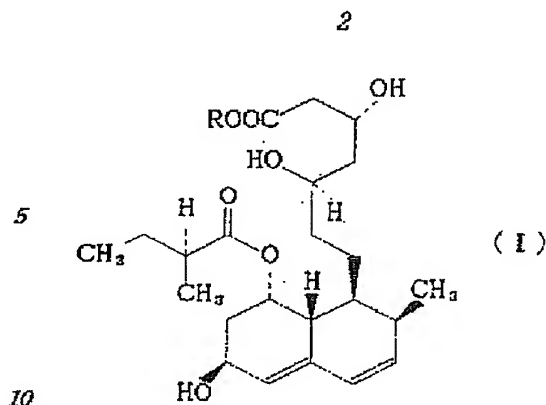
1 式



(式中、Rは水素原子、低級アルキル基またはアルカリ金属を示す。)で示されるML-236B誘導体。

発明の詳細な説明

本発明は式



で示されるML-236B誘導体に関するものである。

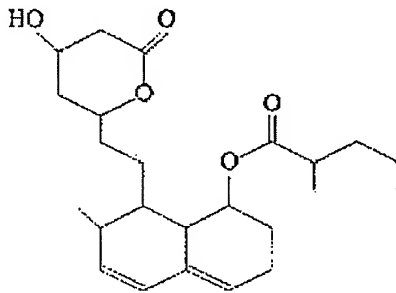
上記式中、Rは水素原子；メチル、エチル、プロピル、イソプロピル、ブチル、イソブチルなどの低級アルキル基；ナトリウム、カリウムなどのアルカリ金属を示す。

前記式(I)で示される化合物は新規物質であり、動物に対するML-236B投与実験中に、その代謝産物として分離されたものである。

ML-236B自体は既知物質であり、膏カビの一種ペニシリウム・チトリヌムの代謝産物より分離、精製された物質で、実験動物から分離した酵素系や培養細胞系においてコレステロールの生合成をその律速酵素の3-ヒドロキシ-3-メチル

グルタリル・コエンザイムAリダクターゼと競合することにより阻害し、動物の個体レベルにおいても強力な血清コレステロールの低下作用を示すことが知られている（特開昭50-155690号、ジャーナル・オブ・アンチバイオティクス29巻 1346～1348頁 1976年）。

ML-236Bは次の化学構造を有している。



本発明者らはML-236Bを動物に投与してその代謝産物を研究中、前記式（I）で示される新規物質がML-236Bにはるかに優るコレステロール阻害活性を有することを見出した。前記式（I）で示される化合物の中、Rが水素原子で示される物質を以後M-4と略称する。

式（I）で示される化合物は次の方法で得られる。

実施例 1

ビーグル犬5匹（牡、平均体重10kg）にML-236Bを200mg/kg/dayの割合で投与し、3日間採尿した。この中3ℓの尿をXAD-2カラム500mlに通し、50%アセトン500mlで溶出し、アセトン30を減圧で留去した後、残留液をトリフルオロ酢酸でpH3に調整した。次いで1ℓの酢酸エチルで3回抽出するとM-4が得られる。本化合物は薄層クロマトグラフィー（TLC）（TLCプレート；メルク社製シリカゲルArt5715、溶媒；ベンゼン：アセトン：酢酸=50：50：3）によりR_f値0.45を示す。上記抽出液を飽和食塩溶液で洗浄し、ジアゾメタンのエーテル溶液を加え30分放置後、減圧乾固した。残渣を55%メタノール10mlに溶解し、カラムクロマト（メルク社、RP-8、サイズB）にかけた。最初、55%メタノール200mlを流した後、60%メタノールで溶出し、初めの240mlは捨て、次のフラクション120mlを集めた。溶剤を留去して乾固し、残渣を65%メタノール25ml

に溶解、さらに高速液体クロマトグラフィー（JASCO-Trirotar、カラム：μ-ボンダバックC₁₈）により精製し、第4ピークを示す部分を分取して溶剤を留去するとM-4メチルエステルが無色油状体として得られた。なお、本操作におけるジアゾメタンに代えて適当なジアゾアルカンを使用すると、該当するM-4のアルキルエステルが得られる。

実施例 2

10 兎肝臓ホモジネートを用いた次の酸素反応によりML-236BよりM-4を得た。

(1) 酵素液

兎肝臓に3倍量の1.15%KCl-10mMリン酸緩衝液（pH7.4）を加えてホモジナイズし、こ

15 のホモジネートを9000gで20分間遠心分離し、上清画分を酵素液とした。

(2) コファクター溶液

還元型ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドホスフェート（NADPH）

3 mg

MgCl₂溶液（508mg/10ml） 0.1ml

1.15%KCl溶液 0.3ml

0.2Mリン酸緩衝液（pH7.4） 0.6ml

を混合し、全量1mlとし、これをコファクター溶液とした。

25

(3) 反応溶液

酵素液80μℓ、コファクター溶液20μℓおよび基質としてML-236Bを最終濃度1mMになるように2μℓメタノール溶液として添加し、37°Cで30分間振盪した。

上記反応によりM-4が生成し、この物質はTLC上（実施例1と同一条件）、実施例1で得られたM-4と同一のR_f値を示した。このようにして得られたM-4は実施例1に記載の方法によりジアゾメタンでメチルエステル化するとM-4メチルエステルが得られる。また兎肝臓ホモジネートの代りに犬肝臓ホモジネートを用いて処理しても同様な結果が得られた。

実施例 3

M-4メチルエステル2mgを0.1N-NaOH1mlに溶解させ、30°Cで1時間加水分解する。これをクロロホルム1mlで洗浄し、水層を0.1NHClでpH8に補正し、XAD-2カラム（約5ml）にかける。20mlの蒸留水で洗った後、50%アセトン15ml

で溶出し、アセトンを留去させ、高速液体クロマトグラフィーによりシングルピークであることを確認（40%メタノール 1 ml/minで溶出し、Retention time 13分）した後、凍結乾燥を行ない、M-4Na塩0.8mgが得られた。

式（I）で示される化合物は次の特性を有する。

A M-4メチルエステル

(1) NMRスペクトル

重クロロホルム中内部基準にTMSを使用 10
して200MHzで測定した。

(CDCl₃) δ ppm :

0.88 (3H, t, J = 7.3Hz)

0.89 (3H, d, J = 6.5Hz)

1.12 (3H, d, J = 6.8Hz)

1.1~1.7 (10H, m)

2.34 (1H, sex, J = 7 Hz)

2.3~2.5 (2H, m)

2.49 (2H, d, J = 6.4Hz)

2.58 (1H, m)

3.72 (3H, s)

3.78 (1H, m)

4.25 (1H, quin, J = 7 Hz)

4.4 (1H, m)

5.42 (1H, m)

5.56 (1H, m)

5.90 (1H, d, d, J = 9.8, 5.6Hz)

5.99 (1H, d, J = 9.8Hz)

(2) マススペクトル

N・O-ビス（トリメチルシリル）トリフ 30
ルオロアセトアミドでシリル化した後、日本
電子製D-300型を用いて測定した。

m/e : 654 (M⁺), 552, 462, 372, 290,
272, 233, 231

(3) 紫外外部吸収スペクトル（エタノール溶液） 35

λ_{max} (nm) : 230.1, 237.3, 246.4

(4) 赤外部吸収スペクトル（薄膜法）cm⁻¹ :

3400, 2950, 1730

(5) TLC

TLCプレート ; メルク社製シリカゲル 40
Art5715

溶媒 ; ベンゼン : アセトン (1 : 1)

R_f値 0.88

(6) 高速液体クロマトグラフィー (HPLC) ウ

オーターズ社製HPLCにより、μ-ボンダバ
ックC₁₈を使用、流速 1 ml/min、溶媒65%メ
タノールでRetention time 15分。

B M-4Na塩

5 (1) NMRスペクトル

重メタノール中、内部基準にTMSを使用
して200MHzで測定した。

(CD₃OD) δ ppm :

0.91 (3H, t, J = 7.5Hz)

0.92 (3H, d, J = 7 Hz)

1.12 (3H, d, J = 7 Hz)

1.1~1.8 (10H, m)

2.25 (1H, d, d, J = 15, 7.6Hz)

2.34 (1H, d, d, J = 15, 5.5Hz)

2.2~2.4 (3H, m)

2.48 (1H, m)

3.68 (1H, m)

4.07 (1H, m)

4.28 (1H, m)

5.36 (1H, m)

5.48 (1H, d, d, J = 3, 2 Hz)

5.88 (1H, d, d, J = 9.6, 5.3Hz)

5.98 (1H, d, J = 9.8Hz)

(2) 紫外外部吸収スペクトル（メタノール溶液）

λ_{max} (nm) : 230.0, 237.2, 245.0

(3) 赤外部吸収スペクトル（KBr法）cm⁻¹ :

3400, 2900, 1725, 1580

(4) TLC

TLCプレート : メルク社製シリカゲル
Art5715

溶媒 ; ベンゼン : アセトン : 酢酸 (50 : 50 :

3) R_f値0.45

(5) HPLC

ウオーターズ社製HPLCにより、μ-ボン
ダバックC₁₈を使用、流速 1 ml/min、溶媒40
%メタノールでRetention time 13分。

コレステロール合成阻害作用

前記式（I）で示される化合物はコレステロー
ル合成経路上の律速酵素として知られる3-ヒド
ロキシ-3-メチルグルタリル・コエンザイムA
リダクターゼ（3-hydroxy-3-methyl-
glutaryl-Co A reductase）を特異的に阻害す
ることが分つた。これら化合物のコレステロール
合成阻害作用（ジャーナル・オブ・バイオロジカ

7

8

ル・ケミストリー (J. Biol. Chem.) 234巻2835頁
(1959年) 記載の方法で測定] を第1表に示す。

第 1 表
コレステロール合成を
50%阻害する濃度
($\mu\text{g}/\text{ml}$)

	$\mu\text{g}/\text{ml}$
M-4メチルエステル	0.001
M-4Na塩	0.0008
ML-236B (対照)	0.01

上述のように式 (I) で示されるML-236B誘
導体は、ML-236Bと同様に血清コレステロール
低下作用を有する。しかしながらその作用はML
-236Bに比べてはるか強力であり、ML-236Bの
5 作用からは予測できないものである。式 (I) で
示される化合物は高脂血症治療剤として非常に有
効である。

10